



UNIVERSIDAD DE ORIENTE  
NÚCLEO DE SUCRE  
ESCUELA DE CIENCIAS  
DEPARTAMENTO DE BIOANÁLISIS

BACILOS ÁCIDO RESISTENTES EN PACIENTES CON  
SINTOMATOLOGÍA RESPIRATORIA, DE LA POBLACIÓN INDÍGENA  
WARAO “MARÍA LÓPEZ” DE GUARIQUÉN, MUNICIPIO BENÍTEZ, ESTADO  
SUCRE.

(Modalidad: Investigación)

FRANCISCO JOSÉ GUZMÁN DÍAZ

TRABAJO DE GRADO PRESENTADO COMO REQUISITO PARCIAL PARA  
OPTAR AL TÍTULO DE LICENCIADO EN BIOANÁLISIS

CUMANÁ, 2010

BACILOS ÁCIDO RESISTENTES EN PACIENTES CON  
SINTOMATOLOGÍA RESPIRATORIA, DE LA POBLACIÓN INDÍGENA  
WARAO “MARÍA LÓPEZ” DE GUARIQUÉN, MUNICIPIO BENÍTEZ, ESTADO  
SUCRE.

APROBADO POR:

---

Prof. Elsa Salazar de V.  
Asesora Académica

---

Licda. Gladys Chirinos  
Asesora Externa

---

---

## ÍNDICE

DEDICATORIA .....	i
AGRADECIMIENTO .....	ii
LISTA DE TABLAS .....	iii
RESUMEN.....	iv
METODOLOGÍA .....	7
Población.....	7
Muestra.....	7
Aspectos éticos.....	7
Prueba de la tuberculina (Derivado proteico purificado, PPD).....	8
Recolección de la muestra de esputo .....	8
Baciloscopia .....	9
Elaboración del frotis: .....	9
Informe de resultados.....	10
Cultivo.....	10
Homogenización, descontaminación: .....	10
Método de Petroff: .....	11
Identificación bioquímica .....	12
Prueba de niacina: .....	12
Procedimiento: .....	12
Inhibición de catalasa a 68°C:.....	12
Procedimiento: .....	13
Reducción de nitrato .....	13
Procedimiento .....	13
Análisis estadístico.....	14
RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	15
CONCLUSIONES .....	29
RECOMENDACIONES.....	30
BIBLIOGRAFÍA .....	31
ANEXOS .....	34
HOJA DE METADATOS .....	39

## **DEDICATORIA**

A:

Mis padres, María Díaz y Francisco Guzmán, por el amor y la confianza que siempre me han brindado, todo el apoyo recibido y todos sus consejos, a ellos este logro.

Mis hermanos, Ernesto y Jesús, por la amistad y ayuda prestada en todo momento. Ustedes son parte importante de mis éxitos.

Todas las personas que me brindaron su ayuda y apoyo durante mis estudios. Familiares, profesores y amigos.

## **AGRADECIMIENTO**

A:

Mi profesora Elsa Salazar, de quien desde el primer momento recibí su ayuda incondicional, ideas, orientación y conocimientos.

La Licda. Gladys Chirinos, por ser receptiva y orientarme con valiosa información, técnicas y procedimientos para la realización de este trabajo.

La profesora Militza Guzmán, por ofrecer de buena voluntad tan valiosa oportunidad y brindar su colaboración y conocimientos para la ejecución de este trabajo.

Al personal del laboratorio de bacteriología del hospital “Dr. Julio Rodríguez”, por toda la ayuda brindada.

Todas aquellas personas que de una forma u otra colaboraron para que este trabajo se hiciera realidad.

## LISTA DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Presencia de bacilos ácido resistentes en pacientes indígenas Warao pertenecientes a la comunidad de María López. ....	16
<b>Tabla 2.</b> Relación epidemiológica de los casos positivos para bacilos ácido alcohol resistentes hallados en los pacientes indígenas Warao pertenecientes a la comunidad de María López. ....	20
<b>Tabla 3.</b> Asociación entre la presencia de bacilos ácido resistentes y el sexo de pacientes indígenas Warao pertenecientes a la comunidad de María López. ....	23
<b>Tabla 4.</b> Asociación entre la edad del paciente y la presencia de bacilos ácido resistentes. ....	24
<b>Tabla 5.</b> Asociación entre la presencia de bacilos ácido resistentes y el alcoholismo y tabaquismo de pacientes indígenas Warao pertenecientes a la comunidad de María López. ....	25

## RESUMEN

Con el objeto de determinar la presencia de bacilos ácido resistentes (BAR), en el presente trabajo de investigación se incluyeron cuarenta y dos pacientes indígenas Warao, de cada sexo, quienes manifestaban tener cuadros respiratorios de más de quince días de evolución, con edades comprendidas entre cero y cincuenta años. Para ello, se realizó baciloscopia y cultivo de la muestra de esputo y la prueba de la tuberculina (PPD). Esta última se aplicó a diecinueve niños, (1-12 años), de quienes no se pudo obtener muestra de esputo, y a dieciocho adultos que manifestaron tener contacto con personas con antecedentes de tuberculosis. Dos de las muestras procesadas resultaron positivas para BAR por la baciloscopia (4,76%) y siete por cultivos (16,66%), de los cuales, dos se identificaron como *M. tuberculosis* y cinco como micobacterias atípicas. Dos de los cultivos positivos (28,57%), fueron también positivos con la baciloscopia. El tamaño de la induración promedio producida por la aplicación del PPD fue de 5 mm de diámetro; para esta prueba resultaron ocho pacientes positivos, en donde, cinco correspondieron a adultos y tres a niños. Los adultos que resultaron positivos para PPD, tuvieron cultivos negativos. Según este estudio, quince de todos los pacientes muestreados, estaban afectados por BAR, centrándose en los adultos el mayor número de casos (10). La mayoría de los pacientes que estuvieron en contacto y/o resultaron positivos para la presencia de BAR, estaban siendo afectados por micobacterias atípicas. Por otro lado, no se halló asociación entre la infección por BAR en los pacientes y los factores predisponentes a padecer de tuberculosis, durante el desarrollo del presente estudio se evidenció que vivir en hacinamiento es una condición natural de esta población. Los resultados de la baciloscopia no deben ser utilizados como única opción en el diagnóstico y monitoreo del tratamiento de la tuberculosis.

Palabra y/o Frases Clave: Tuberculosis, sintomático respiratorio, Warao.

## INTRODUCCIÓN

La tuberculosis (TBC) es una enfermedad infectocontagiosa causada por diversas especies del género *Mycobacterium*, todas ellas pertenecientes al complejo *Mycobacterium tuberculosis*. El grupo incluye a *M. tuberculosis* (causante de tuberculosis en humanos), *M. bovis* (infecta principalmente al ganado bovino, pero también causa tuberculosis en humanos), *M. africanum* (especie causante de tuberculosis humana en el continente africano), *M. microti* (patógena en roedores) y *M. canetti* (una subespecie de *M. tuberculosis* reportada, en tuberculosis humana). La especie de mayor relevancia clínica es *M. tuberculosis* o bacilo de Koch; nombre que recibe en honor a Robert Koch, quien lo describió, por primera vez, el 24 de marzo de 1882. La TBC es, posiblemente, la enfermedad infecciosa más prevalente en el mundo (WHO, 2007a; OPS, 2008a)

*M. tuberculosis* es un bacilo ligeramente curvo o recto que puede medir 0,2-0,6 µm de diámetro x 1,0-10 µm de largo, agrupados en empalizadas o aislados, ocasionalmente, forma ramificaciones verdaderas que se observan en cultivos enriquecidos y en frotis de ganglios linfáticos caseosos. Es una bacteria Gram positiva, débilmente coloreada con Gram, ácido resistente, según la coloración de Ziehl Neelsen. No forma esporas, ni cápsula y es inmóvil. Es un microorganismo aerobio estricto, para su desarrollo necesita una temperatura de crecimiento *in vitro* de 37°C y un pH entre 6,4 y 7,0. Su multiplicación es muy lenta, se divide cada dieciséis a veinte horas. Ante circunstancias adversas puede entrar en estado latente, pudiendo retrasar su multiplicación desde algunos días hasta varios años. Produce la enzima catalasa, reduce nitratos a nitritos, acumula niacina, su crecimiento es inhibido por hidracida de ácido carboxílico, no produce catalasa a 68°C y oxida la glucosa. Es resistente al frío, la congelación y la desecación, pero sensible al calor, la luz solar y la luz ultravioleta (Forbes *et al.*, 2004; WHO, 2007a).

*M. tuberculosis* se encuentra ampliamente distribuido en la naturaleza, en

reservorios como el agua y los suelos, pero patógeno en humanos. Consta de una gruesa pared, constituida por cuatro capas. La más interna es el glicopéptido o peptidoglicano conformado por moléculas de N-acetilglucosamina y ácido-N-glucolilmurámico, con cortas cadenas de alanina. Esta capa es el esqueleto de la bacteria que le da forma y rigidez. Externamente, hay otras tres capas compuestas: una por polímeros de arabinosa y galactosa, otra formada por ácidos micólicos (que son ácidos grasos derivados) y la última capa superficial formada por lípidos (como los sulfolípidos), el *cord factor* (llamado así por su aparente asociación con la forma acordonada con que se agrupan las micobacterias virulentas), y los micósidos (Forbes *et al.*, 2004).

*M. tuberculosis* es clasificado taxonómicamente en el orden *Actinomycetales*, suborden III *Corynebacterineae* y en la familia IV: *Mycobacteriaceae*. La morfología de las colonias en medios de cultivos sólidos son rugosas, eugónicas, secas, de bordes irregulares, no pigmentadas, crecen lentamente y con aspecto de migas de pan. La secuenciación del genoma ha permitido aclarar su relación filogenética con las otras especies del complejo *M. tuberculosis*, el cual comprende micobacterias de crecimiento lento causantes de tuberculosis en animales y humanos, difíciles de diferenciar por métodos bacteriológicos convencionales. De acuerdo a la clasificación de Runyon (1959), basada en sus características fenotípicas (crecimiento y pigmentación), el complejo *M. tuberculosis* pertenece al grupo III, no fotocromógenas, ya que carecen de pigmento al ser cultivadas en luz o la oscuridad y tardan más de siete días en aparecer en medios sólidos (Forbes *et al.*, 2004).

La infección por *M. tuberculosis* suele adquirirse por vía aérea, a partir de aerosoles, productos de tos y espectoración, donde los bacilos tuberculosos (en número de 1 a 3) forman los núcleos de estas partículas, lo suficientemente pequeñas (1-5 micras de diámetro) como para evaporarse y permanecer suspendidas en el aire varias horas. Cuando una persona inhala esas partículas, los bacilos llegan a los alvéolos, y marcan el comienzo de la infección. Una vez allí, los bacilos son fagocitados por los macrófagos alveolares no activados (estadio I de la patogenia), donde se multiplican y producen la

liberación de citoquinas que, a su vez, atraen a más macrófagos y monocitos, que van a fagocitar a los bacilos. Como consecuencia se produce una acumulación de monocitos y bacilos intracelulares (estadio II). La posterior necrosis tisular y de los macrófagos (Necrosis caseosa, estadio III) hace que se cree un medio desfavorable para la multiplicación de los bacilos. Esto se produce alrededor de la tercera semana, coincidiendo con la positividad de la prueba del derivado proteico purificado (PPD) y la sensibilización de los linfocitos CD4, produciéndose una reacción inmunológica por TH1 (linfocitos T colaboradores), con liberación de linfoquinas que activan los macrófagos, capaces de destruir al bacilo. Este fenómeno da lugar a la formación de los granulomas que caracterizan histológicamente a la enfermedad (estadio IV). Posteriormente, se produce la licuefacción del material (estadio V) y éste drena a la vía aérea, lo cual produce consecuentemente, la cavitación. En este medio los macrófagos activados son ineficaces, por lo que se crean condiciones idóneas para la multiplicación extracelular de los bacilos (American Thoracic Society, 2000).

La infección en estado latente se caracteriza por la presencia de respuesta inmune específica, control de la concentración bacilar y la presencia de bacilos en estado estacionario en el tejido necrótico. A medida que los macrófagos van drenando este tejido, los bacilos latentes se confunden con esta necrosis y son drenados hacia el espacio alveolar, donde pueden reactivar su crecimiento nuevamente. De esta manera, se mantiene la infección durante años. Clínicamente, la infección tuberculosa latente no genera síntomas. Los individuos con esta infección no pueden infectar a nadie, sin embargo, en un 10,00% de los casos, el control de la concentración bacilar se pierde, se reanuda el crecimiento y se puede generar una tuberculosis activa, o enfermedad tuberculosa propiamente dicha. Lamentablemente, el tratamiento representa la administración de fármacos durante nueve meses, aproximadamente, hecho que dificulta su seguimiento. El progreso de infección latente a enfermedad puede ocurrir de forma temprana o varios años después de la infección. Los síntomas generalmente incluyen debilidad, malestar general, pérdida de peso, fiebre y/o sudores nocturnos. En el caso de la tuberculosis pulmonar, se presenta: tos, dolor de pecho, y/o tos con sangre. Otros

síntomas dependerán del órgano del cuerpo que se encuentre afectado (American Thoracic Society, 2000).

Según estimaciones de la Organización Mundial de la Salud (OMS), una persona con tuberculosis activa no tratada infecta una media de diez a quince personas al año. Sin embargo, no todos los sujetos infectados por el bacilo de la tuberculosis, necesariamente, desarrollan la enfermedad. El riesgo de desarrollar la enfermedad aumenta cuando el sistema inmunológico de la persona está debilitado. Una tercera parte de la población mundial está actualmente infectada por el bacilo de la tuberculosis. Del 5,00% al 10,00% de las personas infectadas por el bacilo de la tuberculosis, que no están infectadas por el VIH, enferman o pueden transmitir la enfermedad en algún momento de sus vidas. En pacientes coinfectados con VIH y TBC, el riesgo de reactivación se incrementa un 10,00% por año (WHO, 2007b).

La región de Asia Sudoriental registró el mayor número de nuevos casos de tuberculosis, correspondiéndole el 34,00% de la incidencia mundial, sin embargo, la tasa de incidencia estimada en el África subsahariana es casi el doble que en la región de Asia sudoriental, con cerca de 350 casos por cada 100 000 habitantes. En el año 2005, se calcula que 1,6 millones de personas murieron por TBC, siendo la región africana la que registró el mayor número de muertes y de mortalidad por habitante (WHO, 2007a).

En América, para el año 2005, se encontró que Brasil y Perú, ocupaban el primer y segundo lugar con casos de TBC, ya que el 50,00% de los pacientes fueron diagnosticados en estos países; seguidos por México, Haití y USA, con un 21,00% de notificación. Venezuela ocupó el noveno lugar, con un 3,00% de casos notificados de TBC (WHO, 2007a).

En Venezuela, cada año mueren alrededor de 700 individuos a causa de tuberculosis. Las personas fallecen por retraso en el diagnóstico, por complicaciones con otras enfermedades o por abandono del tratamiento. Alexis Guilarte, coordinador del

programa de tuberculosis y enfermedades respiratorias del Ministerio de Salud y Desarrollo Social, declaró que durante 2003 se registraron 6 500 casos en el país. Sin embargo, Venezuela está catalogada como una nación de incidencia media de la enfermedad. Por otra parte, las estadísticas del Ministerio del Poder Popular para la Salud señalan que, diariamente se reportan dieciocho casos de tuberculosis en el país y ocurren dos muertes, aproximadamente, por causa de esta enfermedad, siendo los pobladores indígenas los más afectados (Davies, 2005; Piñate, 2005).

Los waraos constituyen una población indígena que habita al este de Venezuela, en los caños del delta del río Orinoco. En el censo nacional del año 2001, se registraron 36 027 individuos como indígenas waraos declarados. Los waraos, también conocidos como guaraúnos, habitan en los estados Delta Amacuro, Sucre, Monagas, Bolívar, así como también, en la República de Guyana. Estos indígenas se auto denominan Warao, término que algunos traducen como "dueños de la canoa" y otros como "gente sobre agua". Viven en precarias condiciones sanitarias, al no contar con agua potable ni con un lugar apropiado para la disposición de excretas. Además, de no tener un conocimiento y aplicación de las normas básicas de higiene personal (Fernández *et al.*, 2001; Zapata, 2001; Prieto, 2007).

El estudio bacteriológico del esputo, en los enfermos respiratorios, es importante para determinar el agente etiológico de la enfermedad y el tratamiento específico, dada la gran variedad de microorganismos que pueden estar implicados (Rodríguez y Martínez, 2002).

La baciloscopia es la técnica fundamental en toda investigación bacteriológica de tuberculosis, así como para el control de tratamiento, debido a su bajo costo y rápida ejecución. Además de la baciloscopia, el diagnóstico bacteriológico del esputo debe complementarse con el cultivo (Díaz *et al.*, 2003; Nava *et al.*, 2005).

Las autoridades sanitarias de la población de San José de Bujas, estado Monagas,

declararon alerta epidemiológica en la población para el mes de julio de 2004, luego de diagnosticar tuberculosis a cinco integrantes de las comunidades warao, que habitan en el sector, unas setenta y dos horas después, la cifra aumentó cuando ingresaron diez personas más. Entre los ingresados se encontraban dos niños. Según el informe médico, presentado por el director de la emergencia del centro de salud que recibió los casos, “la tuberculosis se ha asentado en las comunidades indígenas de Monagas y las condiciones de vida de los warao facilitaron la transmisión de la enfermedad” (El Nacional, 2004).

En una investigación realizada en niños de la población indígena Warao de Delta Amacuro, de 502 niños de la población, se seleccionó a los menores de quince años (27 niños) con clínica sospechosa de tuberculosis. De estos pacientes, trece (81,00%) resultaron positivos a la PPD. Así mismo, se encontró que siete niños (43,00%) tenían una o más confirmaciones adicionales: tres pacientes fueron positivos por BK/cultivo (2 PPD negativo) y cinco por serología (1 PPD negativo) (Fernández *et al.*, 2001).

Por su parte, en el 2008, D'Alessandro y De Waard, en un estudio realizado en pacientes con tuberculosis pulmonar, que acudieron a la consulta del laboratorio de tuberculosis del instituto de biomedicina, ubicado en Caracas, Venezuela, obtuvieron que trece personas (6,50%) resultaron positivas por baciloscopia y veinte (10,00%) por cultivo de un total de 200 pacientes (D'Alessandro y De Waard, 2008).

La comunidad de María López es un poblado del estado Sucre, ubicado en la parroquia Unión del municipio Benítez. En la actualidad, existe un programa de prevención y tratamiento, que atiende permanentemente la situación de salud, en la cual viven los pobladores indígenas de dicha comunidad. Sin embargo, hay conocimiento en los centros de salud cercanos a este poblado, que se han reportado casos de tuberculosis entre sus habitantes, por ello, con la presente investigación se busca determinar la presencia y prevalencia de bacilos ácido alcohol resistentes, los cuales representan un riesgo para la vida de los indígenas Warao, así como para el resto de la comunidad que está en contacto con ellos.

## **METODOLOGÍA**

### **Población**

De acuerdo a un censo realizado en la comunidad indígena Warao “María López”, de Guariquén, ubicada en la parroquia Unión, Municipio Benítez, estado Sucre, para el mes de noviembre de 2007, previo al inicio de la investigación, la población estaba constituida por 126 individuos indígenas, incluyendo hombres, mujeres y niños.

### **Muestra**

Se aplicó una evaluación clínico-epidemiológica, por parte del personal médico, a los individuos de la comunidad, para obtener datos sobre el estado nutricional, aspectos epidemiológicos y factores de riesgo (anexo 1), de los cuales, fueron seleccionados cuarenta y dos pacientes para la búsqueda de BAR, con edades comprendidas entre 0 y 50 años, veintitres fueron del sexo femenino y diecinueve masculino (los pacientes seleccionados presentaron tos con expectoración por quince días o más de evolución, fiebre, síndrome gripal, debilidad y/o por estar en contacto con pacientes sintomáticos respiratorios). El muestreo se realizó por duplicado, con la finalidad de asegurar la recuperación de BAR.

En total, se recolectaron muestras de esputo, a treinta y dos pacientes. En diez de los niños, de muy corta edad (cero a cuatro años), no se le obtuvo muestra de esputo para el cultivo, por no presentar la expectoración suficiente para el análisis. Además, clínicamente estos pacientes son poco bacilíferos. Por esta razón, se hizo necesario solicitar al programa regional de tuberculosis, la colaboración en la colocación del PPD.

### **Aspectos éticos**

Todas las personas involucradas en esta investigación, así como, los padres o

representantes de cada niño, fueron informados del mismo, sus alcances, beneficios y contraindicaciones, y se les pidió su consentimiento para participar en la toma de muestras de este estudio. Para la solicitud del consentimiento de los padres de los niños, se contó con la ayuda de algunos miembros de la comunidad, quienes explicaron en su lengua nativa los objetivos e importancia del estudio. Debido al inconveniente que se presentó al no poder tener comunicación con los indígenas, y que el nivel de lectura en la población es bajo, el consentimiento se firmó con la huella digital del padre (Anexo 2). El estudio se llevó a cabo considerando las normas de ética establecidas por la OMS para trabajos de investigación en seres humanos y la declaración de Helsinki, ratificada por la 52ª Asamblea General, Edimburgo, Escocia, en el año 2000 (De Abajo, 2001).

### **Prueba de la tuberculina (Derivado proteico purificado, PPD)**

La prueba de la tuberculina se aplicó, a 19 niños (1-12 años), incluyendo a los 10 casos, de quienes no se pudo obtener muestra de esputo, y a 18 adultos que mantenían contacto con pacientes con diagnóstico previo de tuberculosis o por vivir en la misma casa, compartir enseres personales, entre otros.

La prueba de tuberculina fue aplicada por los médicos que participaron en la investigación. Para ello, realizaron la antisepsia con solución fisiológica estéril en la cara flexora del antebrazo izquierdo. El PPD se administró, con agujas y jeringas desechables vía intradérmica, aproximadamente, a nivel medio de la cara flexora del antebrazo y, al cabo de setenta y dos horas, luego de la administración del PPD, se hizo la lectura, donde se midió, en milímetros, el diámetro de la induración o reacción ocurrida. Se consideró positiva, aquella induración donde el tamaño de la misma fuera de 5 mm de diámetro o más (Hurtado *et al.*, 2006).

### **Recolección de la muestra de esputo**

Las muestras de esputo fueron tomadas por cada individuo mediante expectoración

espontánea y depósito del material en un envase de plástico estéril de boca ancha, con tapa de rosca y correctamente etiquetado (Fernández *et al.*, 2001; Forbes, 2004; Hernández *et al.*, 2005; Prieto, 2007; OPS, 2008a).

Las muestras recolectadas fueron trasladadas (protegidas de la luz) al laboratorio clínico del hospital “Dr. Julio Rodríguez”, ubicado en la ciudad de Cumaná, estado Sucre.

### **Baciloscopia**

Todos los procedimientos se realizaron bajo el área de esterilidad proporcionada por la llama de mechero Bunsen.

Elaboración del frotis:

Se realizó un frotis del esputo y se coloreó con la tinción de Ziehl-Neelsen, la cual se fundamenta en la capacidad de las micobacterias de incorporar ciertos colorantes y retenerlos ante la acción de los ácidos y alcohol, propiedad conocida como ácido alcohol resistencia (Forbes *et al.*, 2004).

Para ello, se tomaron las partículas útiles de la muestra con un aplicador de madera y se procedió a colocarlas y extenderlas en la lámina portaobjeto hasta lograr una película uniforme que cubriera las dos terceras partes de la lámina. Posteriormente, se fijó el frotis, una vez seca la lámina, mediante dos o tres pasajes rápidos sobre la llama del mechero, con el extendido hacia arriba, cuidando que no se calentara demasiado.

Las láminas ya fijadas, se colocaron en una rejilla de coloración, que fue dispuesta sobre una cocinilla y se cubrió toda la superficie del extendido con fucsina fenicada al 3%, previamente filtrada, y se encendió la cocinilla para calentar la preparación hasta la emisión de vapores blanquecinos visibles. Cuando esto ocurrió, se dejó de calentar y se repitió dos veces más este paso, durante un periodo de tiempo de cinco a diez minutos.

Transcurrido el tiempo de la primera coloración, se lavó con agua y se cubrió la lámina, con alcohol ácido al 70%, para eliminar el exceso de fucsina fenicada. Este paso duró de treinta segundos a un minuto, aproximadamente. Seguidamente, el frotis se lavó nuevamente con agua y, una vez eliminado el alcohol ácido, se cubrió toda la superficie del extendido con azul de metileno durante treinta segundos, luego se lavó con agua para eliminar restos y exceso del colorante.

Cada frotis se dejó secar y se observó al microscopio con aceite de inmersión, con el objetivo de 100X, para determinar si en el extendido habían bacilos ácido resistentes. Para establecer su número aproximado, se contó sistemáticamente entre 100 y 200 campos microscópicos (Fernández *et al.*, 2001; Forbes, 2004; Hernández *et al.*, 2005; Prieto, 2007). La interpretación de los resultados, se hizo de la siguiente manera:

### **Informe de resultados**

**Negativo:** no se observan BAAR en 200 campos observados.

**Positivo +:** se observan al menos un bacilo por campo en promedio en 100 campos observados.

**Positivo ++:** se observan de uno a diez bacilos por campo en promedio en 50 campos observados.

**Positivo +++:** Se observan más de diez bacilos por campo en promedio en 20 campos observados.

### **Cultivo**

Homogenización, descontaminación:

Las muestras de esputo se homogenizaron y descontaminaron por el método de Petroff, el cual se fundamenta en el hecho de que la adición de hidróxido de sodio a la muestra de esputo, permite fluidificarla y descontaminarla, lo que aumenta las posibilidades de recuperar los BAAR, de estar presentes en la misma (Fernández *et al.*,

2001; Forbes, 2004; Hernández *et al.*, 2005; Prieto, 2007).

Método de Petroff:

Para homogenizar y descontaminar la muestra se procedió a agregar a la misma (contenida en su envase) una parte de hidróxido de sodio al 4% en igual proporción, se mezcló y se dejó en reposo por diez minutos. Luego de este tiempo se llevó a un agitador mecánico por quince minutos. Luego, la mezcla se centrifugó quince minutos a 3 000 g. Terminado este tiempo se eliminó el sobrenadante, se agregó, con la pipeta de Pasteur, una gota de solución indicadora rojo de fenol 0,02% al sedimento y se mezcló. Posteriormente, se agregó, gota a gota, una solución de HCl 1 mol.l<sup>-1</sup> hasta la aparición de un color amarillo y se mezcló. Seguidamente, se agregó gota a gota, una solución neutralizante (buffer fosfato pH 6,8) hasta la aparición de un color fucsia (Fernández *et al.*, 2001; Forbes, 2004; Hernández *et al.*, 2005; Prieto, 2007).

La adición de la solución indicadora rojo de fenol, la solución de HCl y la solución neutralizante, se realizó con el objetivo de ajustar a pH neutro las muestras de esputo.

Una vez descontaminadas y homogenizadas las muestras, se sembraron en medios de cultivo Löwenstein Jensen.

La siembra en medios de cultivos se realizó tomando de tres a cinco gotas de la mezcla anterior y agregándolas al medio inclinado Löwenstein Jensen. Se sembraron dos tubos con medio de Löwenstein Jensen por cada muestra. Posteriormente, las mismas se incubaron a 37°C, durante treinta días en posición inclinada. Un tubo en oscuridad y otro en la claridad.

Se realizaron lecturas cada siete u ocho días, durante siete semanas para determinar la presencia o no de crecimiento bacteriano en cada uno de los tubos (Fernández *et al.*, 2001; Forbes, 2004; Hernández *et al.*, 2005; Prieto, 2007).

## **Identificación bioquímica**

Los cultivos que resultaron positivos y con características de crecimiento sugestivas de *M. tuberculosis*, fueron identificados por las siguientes pruebas bioquímicas:

### Prueba de niacina:

La niacina (ácido nicotínico) juega un rol vital en las reacciones de oxidoreducción que ocurren durante el metabolismo de las micobacterias. Aunque todas ellas producen niacina, la mayoría lo hace en poca cantidad y la emplea en la síntesis de otras moléculas. Sólo *M. tuberculosis* la produce muy activamente y la acumula en gran cantidad porque no puede procesarla posteriormente. Es la prueba bioquímica más útil para diferenciar con certeza a *M. tuberculosis* (Forbes, 2004; Leao *et al.*, 2004; OPS, 2008a).

### *Procedimiento:*

Se agregó 1 ml de agua destilada estéril al tubo que contenía al cultivo y se hicieron punciones, luego se dejó reposar el tubo de manera inclinada por treinta minutos. Una vez transcurrido este tiempo, se tomaron 0,5 ml del sobrenadante y se depositó en un tubo estéril y se introdujo la tira reactiva (adquirida comercialmente). Se esperaron veinte minutos y se realizó la lectura. Al formarse una coloración amarilla en la tira y el líquido contenido en el tubo, se interpretó como reacción positiva, lo cual, identificó la presencia de niacina en alta concentración en el medio de cultivo (Forbes, 2004; Leao *et al.*, 2004; OPS, 2008a).

### Inhibición de catalasa a 68°C:

La catalasa es una enzima que tienen los microorganismos para sobrevivir en el medio, que les permite descomponer los compuestos superoxigenados generados por las células del hospedador o durante la respiración. La catalasa cataliza la descomposición del peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno libre. La actividad de la enzima presente

en *M. tuberculosis* y *M. bovis* resulta inhibida a 68°C. El resto de las micobacterias, con la única excepción de *M. gastri* que es muy poco frecuente, conservan la actividad de catalasa después del calentamiento a 68°C (Forbes, 2004; Leao *et al.*, 2004; OPS, 2008a).

#### *Procedimiento:*

Se rotularon dos tubos por cepa y a cada uno de los tubos se añadió 0,5 ml de solución reguladora de fosfato pH 7,0 y se agregó una asada de cultivo a cada tubo. Posteriormente, se colocó un tubo en baño de maría a 68°C por veinte minutos y el otro a temperatura ambiente. Transcurrido este tiempo, se retiró el tubo que se sometió a baño de maría y se dejó enfriar. Luego, a cada tubo se añadieron cinco gotas de peróxido al 30% + tween 80 al 10% (previamente mezclado 1:1). Se observó la reacción y se interpretó el resultado, donde el resultado positivo se identificó por el desprendimiento de burbujas, lo que indicó actividad enzimática (Forbes, 2004; Leao *et al.*, 2004; OPS, 2008a).

#### Reducción de nitrato

*M. tuberculosis* utiliza el nitrato y nitrito como fuente de nitrógeno. Tiene una enzima unida a la membrana celular que rápida y activamente reduce nitrato (NO<sub>3</sub>) a nitrito (NO<sub>2</sub>). Esta actividad enzimática es muy estable y otorga una herramienta que ayuda a la identificación de distintas especies (Forbes, 2004; Leao *et al.*, 2004; OPS, 2008a).

#### *Procedimiento*

Previamente se prepararon tubos estériles con 2 ml de nitrato al 0,01mol.L<sup>-1</sup>, a los cuales se añadió una asada del cultivo y se incubó a 37°C por 24 horas. Luego, se añadieron cinco gotas del reactivo “Nitrato A” (N,N - dimetil – α – naftilamina + ácido acético al 30%) y cinco gotas del reactivo “Nitrato B” (ácido sulfanílico + ácido acético). Posteriormente, se realizó la lectura e interpretación de los resultados. Se consideró como positiva, aquella reacción donde hubo un desarrollo de color rosa a

fucsia, lo que indicó que se ha reducido el nitrato. (Forbes, 2004; Leao *et al.*, 2004; OPS, 2008a).

El resto de los cultivos, que no fueron identificados como *M. tuberculosis*, se enviaron al Laboratorio de Tuberculosis del Instituto de Biomedicina, ubicado en Caracas, donde fueron identificados mediante la técnica de análisis de polimorfismo del gen *hsp 65*, lo cual no fue objetivo a desarrollar en este trabajo.

Se consideró positivo para BAAR a todos aquellos pacientes que resultaron positivos por baciloscopia, cultivo y/o PPD.

### **Análisis estadístico**

Los resultados obtenidos de la presente investigación fueron sometidos a estadística descriptiva y se presentaron en tablas; además se aplicó un análisis, mediante la prueba de Chi-cuadrado ( $\chi^2$ ), con el propósito de determinar la posible asociación entre las variables clínico – epidemiológicas y la presencia de BAAR (Sokal y Rohlf, 1981).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La ácido resistencia es la propiedad que tienen las micobacterias de captar en la pared fucsina fenicada (de color fucsia) o auramina (amarillo fluorescente) y retenerla aun con la acción de decolorantes, como la mezcla de ácido y alcohol. Esta característica se debe al alto contenido en lípidos, particularmente, a los ácidos micólicos, que poseen en la pared celular. Dicha propiedad pertenece a todos los bacilos del género *Mycobacterium*, aun las micobacterias ambientales y otros pocos microorganismos (Forbes *et al.*, 2004; OPS, 2008a).

En los países con altas tasas de endemicidad de tuberculosis, una baciloscopia positiva en una muestra respiratoria de un paciente inmunocompetente tiene un alto valor predictivo para el diagnóstico de tuberculosis. Es decir, es muy bajo el riesgo de equivocarse al diagnosticar tuberculosis por baciloscopia (WHO, 2007a; OPS, 2008a).

La coloración de Ziehl-Neelsen es la técnica más apropiada para ser utilizada en todos los laboratorios de los países de América Latina. Es la recomendada por la Organización Mundial de la Salud (OMS) y la Unión Internacional Contra la Tuberculosis y Enfermedades Respiratorias (UICTER), por ser la que asegura resultados reproducibles, con un entrenamiento sencillo y la más económica (WHO, 2007a; OPS, 2008a).

Para el presente trabajo de investigación, fueron seleccionados cuarenta y dos pacientes para la búsqueda de BAR, con edades comprendidas entre 0 y 50 años, de los cuales, veintitres fueron del sexo femenino y diecinueve masculino. En total, se recolectaron sesenta y cuatro muestras de esputo, a treinta y dos pacientes, de los cuales, sólo en dos pacientes (6,25%), las muestras resultaron positivas para BAR (+) por baciloscopia; mientras que por cultivo se obtuvieron siete (21,87%) pacientes con muestras positivas. Sólo dos de las muestras (28,57%) positivas para el cultivo, también fueron positivas por baciloscopia (tabla 1).

**Tabla 1.** Presencia de bacilos ácido resistentes en pacientes indígenas Warao pertenecientes a la comunidad de María López.

BACILOSCOPIA	CULTIVO		
	Positivo	Negativo	Total
Positivo	2	0	2
Negativo	5	25	30
Total	7	25	32

Las baciloscopias que resultaron positivas tuvieron contajes de menos de un BAR por campo (positivo +).

En un estudio realizado por Zapata (2001), en poblaciones indígenas de Mosú, Caripito, estado Monagas, se detectaron, nueve casos positivos mediante la baciloscopia, de un total de cuarenta pacientes. Así mismo, Prieto, en 2007, en una investigación realizada en pacientes del hospital Dr. “Julio Rodríguez”, pudo detectar, por baciloscopia, diecinueve casos positivos (36,53%) de cincuenta y dos pacientes estudiados. Por otro lado, Ruíz (2001), en estudio sobre la comparación de la sensibilidad de métodos para el diagnóstico de tuberculosis en pacientes del estado Vargas, de 200 muestras analizadas, trece (6,50%) fueron positivas por baciloscopia y veinte (10,00%) por cultivo.

En una investigación realizada por Morales, en 2004, en pacientes que asistieron al hospital “Pablo Acosta Ortiz” de San Fernando, estado Apure, once personas (25,58%) fueron diagnosticadas con infección por *M. tuberculosis*, mediante baciloscopia y siembra en medios de cultivo Löwenstein Jensen.

La baja proporción de pacientes con baciloscopia positiva puede deberse a que las muestras provenientes de los pacientes indígenas estaban constituidas mayormente por saliva, la cual no es la muestra ideal para realizar una baciloscopia, debido a la baja carga bacilífera que normalmente tiene esta muestra. Cumplir con la etapa de

recolección de muestra resultó muy infructuosa, ya que, durante los muestreos se presentaron varios inconvenientes, entre los que se encontraron: la comunicación no efectiva con los pacientes al momento de explicar la manera adecuada de recolección de la muestra, debido a la diferencia de lenguas y el caso omiso que la mayoría de los indígenas hicieron a las consideraciones dadas para una buena recolección de la muestra de esputo, posiblemente, pueda explicar el por qué el mayor porcentaje de las muestras no resultó representativa y adecuada del proceso infeccioso, razón por la cual, se insistió en repetir, por lo menos, dos veces el muestreo, con el objeto de detectar el mayor número de casos de BAR positivos posibles. También en muchos de los casos, el carácter nómada de la población no permitía ubicarlos el día pautado para la visita, lo cual dificultó aun más la recolección de la muestra.

Para que la baciloscopia sea positiva es preciso que la muestra tenga como mínimo, entre 5 000 y 10 000 bacilos por mililitro de muestra. Este alto contenido de bacilos se encuentra en los pacientes con tuberculosis pulmonar, especialmente, en aquellos con enfermedad avanzada y con lesiones cavitadas. Estos pacientes son los que transmiten los bacilos, manteniendo la enfermedad en la comunidad (OPS, 2008a).

En la comunidad indígena María López, los pacientes con antecedentes de padecer tuberculosis, fueron clasificados como sintomáticos respiratorios (criterio de inclusión mencionado en la metodología). Los resultados negativos de la baciloscopia, en ocasiones no indican que el paciente no esté infectado por BAR, sino que esta prueba no es capaz de detectar bajas concentraciones de bacilos que puedan estar presentes en la muestra (OPS, 2008a).

Con la baciloscopia, el laboratorio inicia la investigación de una muestra del paciente en búsqueda del bacilo de la tuberculosis, detecta y evalúa la evolución de los casos infecciosos, pronostica y avala la curación de los que completan el esquema de medicamentos exitosamente e identifica a los que fracasan con el tratamiento. Por su parte, el cultivo complementa a la baciloscopia, ya que permite poner en evidencia

bacilos viables presentes en escasa cantidad en una muestra, caracterizarlos para certificar que sea el bacilo de la tuberculosis y conocer si es sensible o resistente a las drogas antituberculosas (WHO, 2007a; OPS, 2008a).

Según Díaz et al (2003) y la OPS (2008a), en ocasiones pueden obtenerse resultados falsos positivos, debido a precipitación del colorante, fibras o contaminación por transferencia de bacilos de una muestra a otra. Así mismo, en algunos casos, se obtienen falsos negativos por muestra inadecuada, selección de partículas poco útiles para la realización del extendido o exploración insuficiente de la lámina. Gracias al cultivo, es posible hacer que los bacilos presentes en las muestras de los pacientes se multipliquen in vitro, hasta que se muestren formando colonias en un medio sólido, turbidez en un caldo o hasta que algún sensor incorporado en el medio cambie de color o emita fluorescencia cuando el bacilo consume O<sub>2</sub> o libera CO<sub>2</sub> (OPS, 2008b).

El cultivo permite incrementar la confirmación del diagnóstico de tuberculosis en, aproximadamente, 15-20% del total de casos y en 20-30% de los casos de tuberculosis pulmonar. Hay casos donde las muestras de alguna lesión son tomadas con hisopos, cuyas fibras de algodón son confundidas con BAR, en el caso de los lavados broncoalveolares, pueden haber bacilos muertos que estaban en el instrumento utilizado para tomarlos.

Si se considera el total de casos con diagnóstico de tuberculosis pulmonar confirmado, bacteriológicamente, la baciloscopia detecta el 70-80% y el cultivo 20-30% de los casos restantes. Aunque esta técnica produce resultados muy tardíos, es más sensible que la baciloscopia, ya que, si es realizado en forma adecuada, puede evidenciar un mínimo de 10 a 100 BAR presentes en una muestra, permitiendo así detectar los casos antes de que lleguen a ser contagiosos (Zapata, 2001; WHO, 2007a; OPS, 2008a; OPS, 2008b).

El valor predictivo positivo para la baciloscopia en relación con el cultivo fue de

100% y el negativo de 83,33%; además, se obtuvo una especificidad del 100%; sin embargo, la sensibilidad, en este caso, fue 28,57%, lo cual indica que fue baja en el presente trabajo.

En cuanto a la induración producida por la aplicación de la prueba de PPD, el menor diámetro obtenido en los pacientes con resultado positivo para esta prueba, fue de 8 mm de diámetro, siendo el promedio de la induración, en la población estudiada igual o mayor a 5 mm de diámetro. Todo paciente que tuvo lecturas mayores o iguales a 8 mm de diámetro, fueron considerados positivos. En total, se obtuvieron ocho casos positivos para esta prueba, tres fueron niños y cinco adultos (tabla 2). En el caso de los adultos que resultaron positivos para PPD, los cultivos fueron negativos.

Se pudo observar que, tres personas (dos niños y un adulto), con cultivo positivo mantenían contacto con pacientes que tenían antecedentes de tuberculosis, los cuales también tuvieron cultivos positivos en el presente estudio, pero para micobacterias atípicas.

De los siete cultivos positivos, sólo dos fueron identificados como *M. tuberculosis*, uno como *M. kansasii* y los demás como *Mycobacterium* spp; además, todos los pacientes con cultivo positivo, fueron negativos para PPD. Este hallazgo es de gran importancia, con respecto a la conducta a tomar para el tratamiento antimicrobiano, ya que no todo paciente que presente baciloscopía y/o cultivo positivos para micobacterias, significa que sea a causa de *M. tuberculosis*. El tratamiento antimicrobiano contra las micobacterias es específico y varía de acuerdo a la micobacteria identificada, así que se debe recetar la terapia adecuada para el paciente, según sea el microorganismo que le está causando la patología (Leao *et al.*, 2004; Porras *et al.*, 2005).

**Tabla 2.** Relación epidemiológica de los casos positivos para bacilos ácido alcohol resistentes hallados en los pacientes indígenas Warao pertenecientes a la comunidad de María López.

N0	Baciloscopia	Cultivo	PPD	BCG	Sexo	Edada	Antecedente	Contacto	Microorganismo aislado
2	-	+	-	si	F	25	no	si	Mycobacterium spp
5	-	+	-	no	F	7	no	no	Mycobacterium spp
14	-	+	-	si	F	14	no	si	Mycobacterium tuberculosis
26	-	-	+	si	F	25	no	no	
31	-	-	+	si	F	26	no	no	
32	-	-	+	si	M	4	no	no	
39	+	+	-	si	F	29	si	no	Mycobacterium spp
51	-	+	-	si	M	32	si	no	Mycobacterium kansasii
53	-	-	+	si	M	9	no	no	
69	-	+	-	si	M	10	no	si	Mycobacterium spp
88	-	-	+	si	F	30	no	no	
93	-	-	+	no	F	19	no	no	
95	+	+	-	si	F	28	no	no	Mycobacterium tuberculosis
106	-	-	+	no	F	12	no	no	
503	-	-	+	si	M	30	no	no	

**M:** masculino. **F:** femenino  
**a:** años. (+): positivo. (-): negativo.

De los individuos señalados en la tabla 2, tres pacientes no habían sido vacunados con la BCG, dos de ellos resultaron positivos para PPD, pero negativos para el cultivo, lo cual indica que estos pacientes están infectados con el BAAR, mientras que el otro caso resultó negativo para PPD, pero con cultivo positivo, probablemente sea debido a alguna interferencia en la prueba, como por ejemplo, mala aplicación, error en la lectura o, quizás anergia por parte del individuo.

Otros seis pacientes sólo fueron positivos para PPD y estaban vacunados con la BCG, dos de estos eran niños menores de nueve años, donde cabe la posibilidad de que dicha reacción se debe a la vacuna aplicada en años recientes; los demás casos eran adultos de más de veinticinco años (interpretados como positivos, debido a que la induración fue mayor de 14 mm y hay un tiempo de diez a quince años desde la vacuna con BCG, donde los estudios al respecto indican que la interferencia de la BCG sobre la reacción tuberculínica puede ser despreciable) (Tsicopoulos *et al.*; 1992; Cauthen y Valway, 1994; García *et al.*, 2000).

En las personas vacunadas con BCG se plantea el problema de diferenciar si la induración tuberculínica, se debe a una infección tuberculosa o a una respuesta a antígenos compartidos entre la vacuna de BCG y PPD. En esta situación hay que tener en cuenta determinadas condiciones clínicas, en donde se considera a la prueba positiva, cuando el diámetro de la induración sea mayor a 5 mm y además de vacunados son convivientes o mantienen contactos frecuentes con pacientes con antecedentes de tuberculosis. En el resto de pacientes vacunados con BCG, que no están incluidos en el criterio anterior, pueden considerarse positivos al PPD, cuando mayor sea el tamaño de la induración y más tiempo haya pasado desde la vacunación, es más probable que se trate de una infección tuberculosa y no de una reacción vacunal, ya que los estudios en este sentido indican que la interferencia de la BCG sobre la reacción tuberculínica puede ser despreciable pasados 10-15 años de la vacunación (Cascante *et al.*, 2007).

Según este estudio, quince, de todos los pacientes muestreados, están afectados por

BAR, tres niños y cinco adultos fueron detectados mediante PPD y, por cultivo, dos niños y cinco adultos.

El punto de corte para considerar la induración provocada por la PPD, como significativa de infección, se crea considerando la prevalencia de infección en el área geográfica determinada, la probabilidad de encontrar reacciones cruzadas y las características epidemiológicas de los individuos que se someten a la prueba (Cauthen y Valway, 1994; Hurtado *et al.*, 2006).

La aparición de induración indica de la presencia de infección tuberculosa, de una reacción de hipersensibilidad cruzada desencadenada por el antecedente de vacuna (BCG), o la infección por micobacterias no tuberculosas ambientales. La mayoría de los vacunados con la BCG reaccionan a la tuberculina y, aunque su respuesta se debilita con el paso del tiempo, puede persistir e interferir en la interpretación del resultado del PPD. Por tanto, en personas con mayor probabilidad de infección, como el caso de los contactos con enfermos tuberculosos, infectados por VIH e inmigrantes procedentes de países con alta prevalencia de tuberculosis, no se tendrá en cuenta el antecedente vacunal y se considerará indicativo de infección un resultado de PPD igual o mayor a 5 mm (Tsicopoulus *et al.*, 1992; Hurtado *et al.*, 2006.).

Fernández *et al.* (2001), en investigación realizada en niños de la población indígena Warao de Delta Amacuro, encontraron que trece (81,00%) resultaron positivos a la PPD. Así mismo, se encontró que tres pacientes fueron positivos por BK/cultivo (dos de ellos con PPD negativo). Dichos resultados, son similares a los obtenidos en esta investigación, donde dos niños con cultivo positivo, presentaron PPD negativo.

Para la prueba del PPD, se debe tener en cuenta que una reacción negativa para esta prueba indica que la persona no ha estado en contacto previo con bacilos tuberculosos o que, desde el punto de vista inmunológico, el paciente experimente anergia (disminución o desaparición de la reacción ante antígenos específicos). De igual

manera, un resultado positivo, sólo indica que el paciente ha sido infectado en el pasado por bacilos tuberculosos o que simplemente ha estado en contacto con los mismos (Tsicopoulus *et al.*, 1992; Cauthen y Valway, 1994; García *et al.*, 2000).

La tuberculina puede fallar, obteniéndose resultados falsos positivos, como por ejemplo, una infección local por contaminación del área de punción o hematoma por ruptura de pequeñas vénulas. Así mismo, podrían obtenerse resultados falsos negativos cuando la tuberculina está vencida o deteriorada por exposición a la luz, mala aplicación de la prueba, lectura incorrecta, precoz o tardía, dilución de la tuberculina por los antisépticos usados en la piel, supresión de la inmunidad retardada por infecciones, vacunas con virus vivos, drogas inmunosupresoras, entre otras (Colvin, *et al.*, 1979; Tsicopoulus *et al.*, 1992; Cauthen y Valway, 1994).

El análisis de la prevalencia de BAR en cuanto al sexo, arrojó los siguientes resultados, diez casos positivos para BAR, correspondieron a pacientes del sexo femenino, mientras que cinco casos positivos para BAR fueron del sexo masculino (Tabla 3). Al aplicar la prueba de chi cuadrado se encontró que no hubo asociación estadísticamente significativa entre estas variables.

**Tabla 3.** Asociación entre la presencia de bacilos ácido resistentes y el sexo de pacientes indígenas Warao pertenecientes a la comunidad de María López.

SEXO	Negativos	Positivos	Total
Femenino	13 (30,95%)	10 (23,81%)	23 (54,76%)
Masculino	14(33,33%)	5 (11,90%)	19 (45,24%)
Total	27 (64,29%)	15 (35,71%)	42 (100,00%)

$\chi^2 = 0,69$  NS;  $\chi^2(1;0,05) = 3,481$  con corrección de Yates

Previamente, se ha reportado que la susceptibilidad o no a contraer infección por micobacterias, no está condicionada por el sexo del paciente (Morales 2004; WHO, 2007a; Prieto, 2007).

En cuanto a la edad, básicamente, estos pacientes pudieron ser clasificados en dos grupos etareos: niños (1-14 años) y adultos ( $\geq 14-47$  años). 66,67% de los casos positivos para BAR se ubicó en el grupo etario de 14-47 años, esto posiblemente, se debió a que es esta población la que está más en contacto con personas fuera de la comunidad, lo que pudiera representar una de las principales fuentes de adquisición de BAR en la comunidad. Además, son la población más comúnmente propensa a hábitos tabáquicos y/o alcohólicos. En la tabla 4, se puede observar que no existe una asociación entre la edad y la presencia de BAR.

**Tabla 4.** Asociación entre la edad del paciente y la presencia de bacilos ácido resistentes.

EDAD	Negativos	Positivos	Total
1 – 14	14 (33,33%)	5 (11,90%)	19 (45,24%)
$\geq 14 - 47$	13 (30,95%)	10 (23,81%)	23 (54,76%)
Total	27 (64,29%)	15 (35,71%)	42 (100,00%)

$\chi^2 = 0,69$  NS;  $\chi^2(1;0,05) = 3,84$  con corrección de Yates

Reportes de la organización mundial (2007b) y panamericana de la salud (2008a) incluyen a la inmunosupresión, mala alimentación, alcoholismo, tabaquismo, drogadicción y hacinamiento, como factores que predisponen al paciente a padecer de tuberculosis.

Al analizar los factores predisponentes (alcoholismo, tabaquismo, hacinamiento, desnutrición y drogadicción) presentes en esta población indígena, se encontró que de los quince casos positivos, dos consumían alcohol regularmente y que sólo uno mantenía hábitos tabáquicos; todos los habitantes viven en hacinamiento.

En cuanto a las mediciones antropométricas (realizadas por médicos) y resultados de laboratorio (datos no mostrados), indican que, en general, no hay problemas de

desnutrición en la población estudiada, y ningún indígena afirmó consumir drogas. De allí que, para aplicar el chi cuadrado, solo se tomó en cuenta el hábito tabáquico, el cual no estuvo asociado a la presencia de BAR en los pacientes de la población de María López.

**Tabla 5.** Asociación entre la presencia de bacilos ácido resistentes y el alcoholismo y tabaquismo de pacientes indígenas Warao pertenecientes a la comunidad de María López.

FACTORES PREDISPONENTES		negativos		positivos		total		significancia
		No	%	No	%	No	%	
ALCOHOLISMO	Si	0	0,00	2	4,76	2	4,76	----  $\chi^2 = 0,00$ NS
	No	27	64,29	13	30,95	40	95,32	
TABAQUISMO	Si	3	7,14	1	2,38	4	9,52	
	No	24	57,14	14	33,33	38	90,48	

$\chi^2 = 0,00$  NS;  $\chi^2(1;0,05) = 3,481$  con corrección de Yates; (----) No se aplicó Chí cuadrado.

De los resultados obtenidos se deduce que la población de estudio resultó muy dispersa con respecto a la edad, en donde se encontró que el 45,24% de los pacientes estuvo constituido por menores de 12 años, rango de edad en el cual no es usual el consumo de alcohol, ni tabaco. El hecho de no encontrar asociación entre las variables estudiadas (sexo, alcoholismo, tabaquismo) con la positividad para BAR en esta población indígena, en particular, no establece que sea así para otros tipos de poblaciones. Al respecto, investigaciones realizadas en pacientes criollos, por Morales (2004) y Prieto (2007), afirman que el alcohol y el tabaco son factores predisponentes a contraer infecciones causadas por micobacterias.

El hacinamiento es considerado el mayor factor de riesgo para la colonización y diseminación de cepas patógenas a nivel respiratorio (Bogaert *et al.*, 2004). De acuerdo con los resultados obtenidos en las encuestas epidemiológicas, la mayoría de los pobladores indígenas involucrados en el presente estudio vivían en casas plurifamiliares, lo que constituye un hacinamiento natural en la comunidad, motivo por el cual, en la

presente investigación, no se pudo establecer la asociación estadística entre la presencia de BAR y esta variable epidemiológica. Como mínimo se observó que en una casa habitaban cinco personas y como máximo treinta.

La comunidad indígena Warao de María López, consta de un total de veintiún familias, distribuidas en diez casas, en donde se pudo encontrar que los quince pacientes que resultaron positivos para la presencia de BAR, detectados en este estudio, se distribuyeron en nueve familias, de los cuales, diez de esos pacientes vivían distribuidos en tres casas multifamiliares con detección de dos casos o más por casa, y el resto vivían en casas donde solo se detectó un caso.

Los resultados obtenidos pudieran deberse a múltiples factores, entre los que, cabe mencionar que la comunidad de indígenas Warao de María López, según un censo realizado previamente al estudio, consta de un total de 126 individuos, de los cuales cuarenta y dos fueron seleccionados por presentar sintomatología respiratoria y/o ser contacto con pacientes sintomáticos respiratorios, lo que representa un número muestral relativamente pequeño, lo cual no indica que estas variables no puedan estar asociadas en otros tipos de poblaciones, con mayor número de individuos. También, la lejanía y lo complicado que resultó llegar a la población, las limitaciones económicas, no permitieron extender el muestreo por más tiempo o incluir la realización de radiografía de tórax, lo cual, probablemente, hubiera permitido la detección de otros pacientes incluidos en el estudio con infecciones respiratorias.

El hecho de haber detectado dos pacientes con diagnóstico previo para tuberculosis y que en este trabajo de investigación se haya detectado que son micobacterias no tuberculosas, es evidencia de que estas personas no tienen el tratamiento indicado para dichas bacterias y además existe la posibilidad de que la cepa sea resistente al tratamiento antimicrobiano que se está empleando en la población, ya que están siendo tratados inadecuadamente con una terapia antimicrobiana dirigida a una

infección por *M. tuberculosis* y no a una infección ocasionada por micobacterias atípicas.

La identificación microscópica de BAR es una buena evidencia de presunción, pero no excluye otras enfermedades por micobacterias y, en muchos casos, al observar a estos bacilos en una baciloscopia e incluso tener crecimiento en un cultivo, se trata al paciente con antimicrobianos para combatir una infección por *M. tuberculosis*, cuando aún no se sabe si la patología que presenta es causada en realidad por dicho microorganismo o tiene infección por otro tipo de micobacteria, lo que conlleva al fracaso terapéutico. Al respecto, se ha reportado que el tratamiento aplicado para tratar casos de tuberculosis (estreptomina, etambutol, rifampicina, isoniazida, pirazinamida), no es el mismo que se cumple en casos de micobacteriosis; ya que, éstas han mostrado resistencia a dicho tratamiento. Por lo tanto, se hace necesario identificar cual es la micobacteria que afecta al paciente, para poder orientar la aplicación del tratamiento antimicrobiano, evitando así, fallas terapéuticas y la posible aparición de cepas resistentes (Porras *et al.*, 2005; Said-Fernández *et al.*, 2005).

Del presente estudio se concluye que la baciloscopia es la técnica de elección para el diagnóstico rápido y es la herramienta fundamental de un programa de control de la tuberculosis, más no debe ser tomada como única opción en el diagnóstico de la misma (Prieto, 2007; OPS, 2008a).

Por último, el cultivo es el método de referencia con el que se debe evaluar todo nuevo método diagnóstico, ya que, mediante éste es posible aislar los BAR presentes en una muestra, en cantidad suficiente como para identificarlos por métodos bioquímicos. Además, por su sensibilidad y porque detecta únicamente bacilos vivos, el cultivo es el mejor método para demostrar la curación de un paciente al finalizar el esquema terapéutico. Así mismo, permite realizar la prueba de sensibilidad a los antibióticos, identificar a los casos que necesitan una reformulación de la quimioterapia y orientar la conformación de un nuevo esquema de tratamiento (OPS, 2008b).

Según la OPS (2008b), ningún método inmunológico ha logrado equiparar la especificidad del cultivo para detectar y confirmar el diagnóstico de la enfermedad causada por el bacilo de la tuberculosis. Por lo tanto, no es razonable introducir innovaciones en los laboratorios de diagnóstico de tuberculosis, sin tener antes asegurada la cobertura y calidad con baciloscopia y cultivo.

## CONCLUSIONES

Para el momento de la realización del presente estudio, 11,90% (15 casos) de la comunidad de indígenas Warao de María López, era afectada por BAR. Los más afectados fueron los adultos.

La mayoría de los pacientes que estuvieron en contacto y/o resultaron positivos para la presencia de BAR, estaban siendo afectados por micobacterias atípicas.

Aunque no se halló asociación entre la infección por BAR en los pacientes y los factores predisponentes a padecer de tuberculosis, durante el desarrollo del presente estudio se evidenció que vivir en hacinamiento es una condición natural de esta población.

La baciloscopía no debe ser utilizada como única opción en el diagnóstico de M. tuberculosis, por lo que toda metodología diagnóstica, debe ser complementada con el cultivo.

## **RECOMENDACIONES**

Realizar baciloscopia y cultivo a todas las muestras de esputo, como metodología básica en el diagnóstico microbiológico del mismo.

Estudiar y monitorear a los casos de PPD positivos, que no fueron cultivados, particularmente, los niños, de los que no se obtuvo muestra.

Velar que estos pacientes cumplan totalmente con el tratamiento adecuado, mediante la creación de un sistema, atendido por personal capacitado y evitar posibles nuevos contagios de micobacterias en la población.

Hacer monitoreos constantes en la población, así como también, su relación con las regiones indígenas cercanas.

Fomentar la higiene y adecuada alimentación en la población.

## BIBLIOGRAFÍA

American Thoracic Society. 2000. Diagnostic standards and classification of tuberculosis in adults and children. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 161: 1376-1395.

Bogaert, D.; De Groot, R. y Hermans, P. 2004. Streptococcus pneumoniae colonization: the key of pneumococcal disease. *The Lancet Infectious Diseases*, 4(3): 144-154.

Cascante, J.; Pascal, I.; Eguía, V. y Hueto, J. 2007. Diagnóstico de la infección tuberculosa. *Anales del Sistema Sanitario de Navarra*, 30(2): 49-65.

Cauthen, G. y Valway, E. 1994. Tuberculin reactions read at 2 and 7 days. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 149: 101-109.

Colvin, R.B.; Mosseson, M.W. y Dvorak, H. 1979. Delayed-type hypersensitivity skin reactions in congenital afibrinogenemia: lack of fibrin deposition and induration. *Journal of Clinical Investigation*, 63: 1302-1306.

D'alessandro, A. y De Waard, J. 2008. Evaluation of two commercial tests for the serodiagnosis of pulmonary tuberculosis. *Revista Chilena de Infectología*, 25(1): 37-40.

Davies, V. 2005. "La tuberculosis causa la muerte de 700 personas anualmente en el país". *El Nacional*, Miércoles 23 de Marzo de 2005, pág. B/16.

De Abajo, F. 2001. La declaración de Helsinki VI. *Revista Española Salud Pública*, 75: 407-420.

Díaz, J.; Aréchiga, A.; Martínez G. y Cantú, P. 2003. La baciloscopia y el cultivo en el diagnóstico de la tuberculosis extrapulmonar. *Revista Salud Pública y Nutrición*, 4(3): 12-19.

El Nacional. "Waraos también vulnerados en su derecho a la salud". *El Nacional*, Martes 27 de julio 2004, Pág. B/10.

Fernández, C.; Fandiño, C.; López, D.; Del Nogal, B.; Rodríguez, N.; Convit, J.; Araujo, Z. y De Waard J. 2001. Tuberculosis en menores de 15 años en la población Warao de Venezuela. *Investigación Clínica*, 43: 35-48.

Forbes, B.; Sahn, D. y Weissfeld, A. 2004. Bailey y Scott. Diagnóstico microbiológico. Onceava edición. Editorial médica panamericana. Buenos aires, Argentina.

García, L.F.; Barrera, L.F.; París, S.C.; Vázquez, G.M.; Patiño, E.; Zabaleta, J. y Rojas, M. 2000. La tuberculosis una enfermedad Inmunológica. En Memorias II Congreso de la Asociación Latino Americana del Tórax, 12: 52-55.

Hass, D.W. 2002. *Mycobacterium tuberculosis*. En: Mandell, G.L.; Bennet, J.E.; Dolin, R.; editores. Enfermedades infecciosas. Principios y práctica. Quinta edición. Buenos Aires: editorial Médica Panamericana. p. 3120-3159.

Hernández, C.; Correa, M.; Zamora, F.; Rossi, M.; Rico, S.; Pedroza, R. y Gómez, M. 2005. Aislamiento e identificación de micobacterias mediante métodos bacteriológicos y de biología molecular. Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología, 25(2): 79-87.

Hurtado, M.; Bruzual, E.; Brito, A. y De la Parte, M. 2006. Interpretación de la prueba tuberculínica en adultos vacunados con BCG. Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología, 26(2): 108-112.

Leao, S.; Mejia, A.; Palomino, J.; Robledo, J.; Telles, M. y Portaels, F. 2004. Practical handbook for the phenotypic and genotypic identification of mycobacteria. Section I – fundamental aspects of mycobacterial identification.

Morales, Y. 2004. M. Tuberculosis: Frecuencia, clínica y epidemiología en pacientes consultantes del hospital “Pablo Acosta Ortíz” de San Fernando, estado Apure. Trabajo de pregrado. Departamento de Bioanálisis. Universidad de Oriente, Cumaná.

Nava, O.; Hassanhi, M. y Prieto, L. 2005. Evaluación de la baciloscopia, cultivo y reacción en cadena de la polimerasa para el diagnóstico de tuberculosis pulmonar. KAMERA, 33(2): 119-131.

Organización Panamericana de la Salud (OPS). 2008a. Manual para el diagnóstico bacteriológico de la tuberculosis parte I. Baciloscopia. OPS.

Organización Panamericana de la Salud (OPS). 2008b. Manual para el diagnóstico bacteriológico de la tuberculosis parte II. El cultivo. OPS.

Piñate, F. 2005. El problema actual de la tuberculosis. Gaceta Médica de Caracas, 113(3): 316-322.

Porras, T.; León, C.; Guerrero, M.; Martín, A.; Portaels, F. y Palomino, J. 2005. Evaluación de métodos fenotípicos y genotípicos para la detección de farmacorresistencia de *Mycobacterium tuberculosis*. Biomédica, 25: 22-33.

Prieto, L. 2007. Epidemiología y diagnóstico presuntivo de *M. tuberculosis* a través de tres métodos en pacientes sintomáticos respiratorios del hospital Dr. Julio

Rodríguez de Cumaná estado Sucre. Trabajo de pregrado. Departamento de Bioanálisis. Universidad de Oriente, Cumaná.

Rodríguez, C. y Martínez, J. 2002. Vigilancia microbiológica en infecciones respiratorias bajas. *Revista Cubana de Higiene y Epidemiología*, 40(3): 189-202.

Ruíz, N. 2001. Comparación de la sensibilidad de los métodos: Baciloscopia, Cultivo y ELISA para el diagnóstico de tuberculosis en pacientes del estado Vargas. Trabajo de pregrado. Departamento de Bioanálisis. Universidad de Oriente, Cumaná.

Said-Fernández, C.; Becerril-Montes, P.; Molina-Salinas, G.; Barrios-García, H. y Vargas-Villarreal, J. 2005. Tuberculosis causada por cepas de *Mycobacterium tuberculosis* drogorresistentes. *Enfermedades Emergentes*, 7(1): 13-19.

Sokal, R. y Rohlf, F. 1981. *Biometría, principios estadísticos en la investigación biológica*. Blume. Madrid, España.

Tsicopoulos, A.; Hamid, Q.; Varney, V.; Ying, V.; Moqbel, R. y Durhan, S.R. 1992. Preferential messenger RNA expression of Th1-type cells (IFN-gamma+, IL-2+) in classical delayed-type (tuberculin) hypersensitivity reaction in human skin. *Journal of Immunology*, 148: 2058-2061.

World Health Organization. (WHO). 2007a. Global tuberculosis control - The global TB epidemic. WHO report 2007. World Health Organization, Ginebra.

World Health Organization. (WHO). 2007b. Tuberculosis: infection and transmission. WHO report 2007. World Health Organization, Ginebra.

Zapata, Z. 2001. Evaluación de la histoplasmosis y tuberculosis en poblaciones indígenas de Mosú, Caripito, Estado Monagas. Trabajo de pregrado. Departamento de Bioanálisis. Universidad de Oriente, Cumaná.

## **ANEXOS**

## ANEXO 1

### CONSENTIMIENTO INFORMADO

Título: Diagnóstico clínico y de laboratorio en la población indígena Warao “María López, parroquia Unión, municipio Benítez, estado Sucre.

Coordinación: Profesora Militza Guzmán.

Teléfonos: 0424-8252742

Instituciones: PDVSA GAS DISTRITO SOCIAL SUCRE ESTE Y Universidad de Oriente, Núcleo de Sucre.

Sr(a): \_\_\_\_\_, antes de que usted decida tomar parte en este estudio de diagnóstico de salud, es importante que reciba la siguiente información.

Bajo la supervisión de las profesoras Militza Guzmán, Del Valle Guilarte, Erika Gómez, Elsa Salazar, Patricia Cruces y José Betancourt, Núcleo de Sucre, Universidad de Oriente, se discutirá con usted el propósito de este estudio y se le explicarán todos aquellos puntos en los que tenga dudas. Si después de haber recibido toda la información usted decide participar, deberá firmar este consentimiento en el lugar indicado.

El objetivo general del estudio es: Determinar la prevalencia de parasitosis intestinales, tuberculosis, infecciones respiratorias, dengue, HIV, infecciones urinarias, malaria y evaluar el estado nutricional en la población indígena Warao “María López” de la parroquia Unión, municipio Benítez, estado Sucre.

Su colaboración consistirá en donar de forma voluntaria una muestra de sangre (10 ml), de heces, de orina y de esputo. La sangre será extraída por punción venosa, con previa asepsia del antebrazo por un bioanalista, lo que no implica ningún riesgo para su salud.

Además, es necesario que sepa que la muestra de sangre será utilizada única y exclusivamente para la determinación de parámetros hematológicos, bioquímicos, para la detección de *Plasmodium* (parásitos causantes de la malaria o paludismo) y de anticuerpos anti-Micoplasma. La muestra de heces se utilizará para detectar la presencia

de parásitos intestinales y bacterias; la orina servirá para la búsqueda de agentes causales de infecciones urinarias y el esputo servirá para la búsqueda de bacterias causantes de infecciones respiratorias.

Yo: \_\_\_\_\_, C.I: \_\_\_\_\_, de nacionalidad \_\_\_\_\_, de estado civil: \_\_\_\_\_ y domiciliado en: \_\_\_\_\_ . Siendo mayor de edad y en pleno uso de mis facultades mentales y sin que nadie me obligue, declaro:

1. Haber sido informado(a) de forma clara y sencilla de todos los aspectos relacionados con el estudio.
2. Tener conocimiento claro de que el objetivo general del estudio.
3. Que el equipo que realiza el estudio me ha garantizado confidencialidad relacionada, tanto con mi identidad como con toda información relativa a mi persona.
4. Que bajo ningún concepto se me ha ofrecido, ni pretendo recibir ningún beneficio de tipo económico, producto de los hallazgos que puedan producirse en el estudio.
5. Que el beneficio principal que obtendré, será recibir el reporte de los exámenes de laboratorio, el diagnóstico clínico y tratamiento en caso de requerirlo.

### **DECLARACIÓN DEL VOLUNTARIO**

Después de haber sido informado(a) y aclarado mis dudas con respecto al estudio, autorizo voluntariamente la toma de las muestras (sangre, heces, orina y esputo) y procesamiento de las mismas.

Nombres y Apellidos: \_\_\_\_\_ C.I: \_\_\_\_\_

Firma: \_\_\_\_\_

En \_\_\_\_\_ a los \_\_\_\_\_ días del mes de \_\_\_\_\_ de 2008.

## ANEXO 2

Universidad de Oriente  
Departamento de Bioanálisis  
Encuesta para el proyecto integral de salud  
Comunidad María López. Guariquen. Municipio Benitez

### Datos para Estado nutricional

Nombre:				
Sexo:	Edad:	Ocupación:		
Ubicación:				
Peso:	Talla:	Tensión arterial:	Pulso:	Temp.:
Perímetro del Brazo:	Circunferencia cefálica:		Observ.	
	Circunferencia abdominal:			

### Epidemiológicos y factores de riesgo

N° individuos que habitan en la vivienda	N° individuos enfermos diagnosticados con alguna enfermedad: ¿Cuál enfermedad?  ¿Parentesco con usted?	N° individuos enfermos no diagnosticados
Fuma	¿Desde cuándo?	
Asmático	¿Desde cuándo?	
Diabético	¿Desde cuándo?	
¿Ha tenido tos frecuentemente?	¿Desde cuándo?	
¿En su familia hay personas con tos?	¿Desde cuándo?	¿Parentesco?
¿Ha tenido diarrea frecuentemente?	¿Desde cuándo?	Moco Sangre
Ingiere licor	Mucho	moderado Poco
Residente de la zona	¿Desde cuándo?	
¿Ha viajado fuera de María López?	Si  ¿Habían personas enfermas donde usted fue?  ¿Qué tenían?	No  ¿A dónde viajó?  ¿Por cuánto tiempo?

En caso de tener clínica de tuberculosis	¿Ha tenido contacto con otras personas que tengan esta sintomatología?	Si ¿Parentesco con usted? ¿Desde cuándo estaban enfermos ellos?	No	NC
¿Donde compran los alimentos que consumen?				
Origen de los alimentos	Animal: ¿Cuáles?	Vegetal: ¿Cuáles?		
¿Donde defeca?				
¿Conoce algunas normas de higiene?				

Otras observaciones colocar al reverso:

## HOJA DE METADATOS

### Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 1/5

<b>Título</b>	<b>Bacilos Ácido resistentes en pacientes con sintomatología respiratoria, de la Población Indígena Warao “María López” de Guariquén, Municipio Benítez, Estado Sucre.</b>
<b>Subtítulo</b>	

#### **Autor(es)**

<b>Apellidos y Nombres</b>	<b>Código CVLAC / e-mail</b>	
<b>Guzmán. D, Francisco J.</b>	<b>CVLAC</b>	<b>17674847</b>
	<b>e-mail</b>	<b>fgjd_1985@hotmail.com</b>
	<b>e-mail</b>	

#### **Palabras o frases claves:**

**Tuberculosis, sintomático respiratorio, Warao.**

## Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 2/5

### Líneas y sublíneas de investigación:

Área	Subárea
Ciencias	Bioanálisis

### Resumen (abstract):

Con el objeto de determinar la presencia de bacilos ácido resistentes (BAR), en el presente trabajo de investigación se incluyeron cuarenta y dos pacientes indígenas Warao, de cada sexo, quienes manifestaban tener cuadros respiratorios de más de quince días de evolución, con edades comprendidas entre cero y cincuenta años. Para ello, se realizó baciloscopia y cultivo de la muestra de esputo y la prueba de la tuberculina (PPD). Esta última se aplicó a diecinueve niños, (1-12 años), de quienes no se pudo obtener muestra de esputo, y a dieciocho adultos que manifestaron tener contacto con personas con antecedentes de tuberculosis. Dos de las muestras procesadas resultaron positivas para BAR por la baciloscopia (4,76%) y siete por cultivos (16,66%), de los cuales, dos se identificaron como *M. tuberculosis* y cinco como micobacterias atípicas. Dos de los cultivos positivos (28,57%), fueron también positivos con la baciloscopia. El tamaño de la induración promedio producida por la aplicación del PPD fue de 5 mm de diámetro; para esta prueba resultaron ocho pacientes positivos, en donde, cinco correspondieron a adultos y tres a niños. Los adultos que resultaron positivos para PPD, tuvieron cultivos negativos. Según este estudio, quince de todos los pacientes muestreados, estaban afectados por BAR, centrándose en los adultos el mayor número de casos (10). La mayoría de los pacientes que estuvieron en contacto y/o resultaron positivos para la presencia de BAR, estaban siendo afectados por micobacterias atípicas. Por otro lado, no se halló asociación entre la infección por BAR en los pacientes y los factores predisponentes a padecer de tuberculosis, durante el desarrollo del presente estudio se evidenció que vivir en hacinamiento es una condición natural de esta población. Los resultados de la baciloscopia no deben ser utilizados como única opción en el diagnóstico y monitoreo del tratamiento de la tuberculosis.

Palabra y/o Frases Clave: Tuberculosis, sintomático respiratorio, Warao.

---

## Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 3/5

### Contribuidores:

Apellidos y Nombres	ROL / Código CVLAC / e-mail				
Elsa Salazar	ROL	C <input type="checkbox"/> A <input type="checkbox"/>	A <input type="checkbox"/> S <input type="checkbox"/>	T <input type="checkbox"/> U <input checked="" type="checkbox"/>	J <input type="checkbox"/> U <input type="checkbox"/>
	CVLA C				
	e-mail				
	e-mail				
Militza Guzmán	ROL	C <input type="checkbox"/> A <input type="checkbox"/>	A <input type="checkbox"/> S <input type="checkbox"/>	T <input type="checkbox"/> U <input type="checkbox"/>	J <input type="checkbox"/> U <input checked="" type="checkbox"/>
	CVLA C				
	e-mail	miltzaguz@cantv.net			
	e-mail				

### Fecha de discusión y aprobación:

Año	Mes	Día
2010	01	22

Lenguaje: spa

## Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 4/5

**Archivo(s):**

<b>Nombre de archivo</b>	<b>Tipo MIME</b>
TESIS_FJGD.DOC	Application/Word

**Alcance:**

**Espacial :** Universal

**Temporal:** Intemporal

**Título o Grado asociado con el trabajo:**

Licenciado en Bioanálisis

**Nivel Asociado con el Trabajo:** Licenciatura

**Área de Estudio:**

Bioanálisis

**Institución(es) que garantiza(n) el Título o grado:**

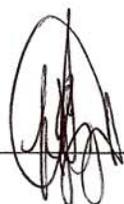
Universidad de Oriente

# Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 5/5

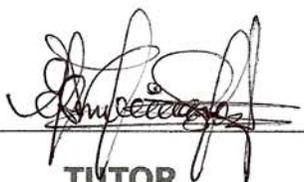
## Derechos:

Para publicar título y resumen únicamente en la página web.

---



**AUTOR 1**



**TUTOR**



**JURADO 1**



**JURADO 2**

**POR LA SUBCOMISIÓN DE TESIS:**

